

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
3. Juni 2004 (03.06.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2004/045768 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: B01L 3/00,
G01N 1/28, B01L 9/00

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2003/013013

(22) Internationales Anmeldedatum:
20. November 2003 (20.11.2003)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
102 54 229.5 20. November 2002 (20.11.2002) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): P.A.L.M. MICROLASER TECHNOLOGIES AG
[DE/DE]; Am Neuland 12, 82347 Bernried (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): SCHÜTZE, Karin
[DE/DE]; Lange Strasse 8a, 82327 Tutzing (DE).
SCHÜTZE, Raimund [DE/DE]; Lange Strasse 8a, 82327
Tutzing (DE). HERRMANN, Hendrik [DE/DE]; Am
Hölzlacker 1, 82407 Haunshofen (DE).

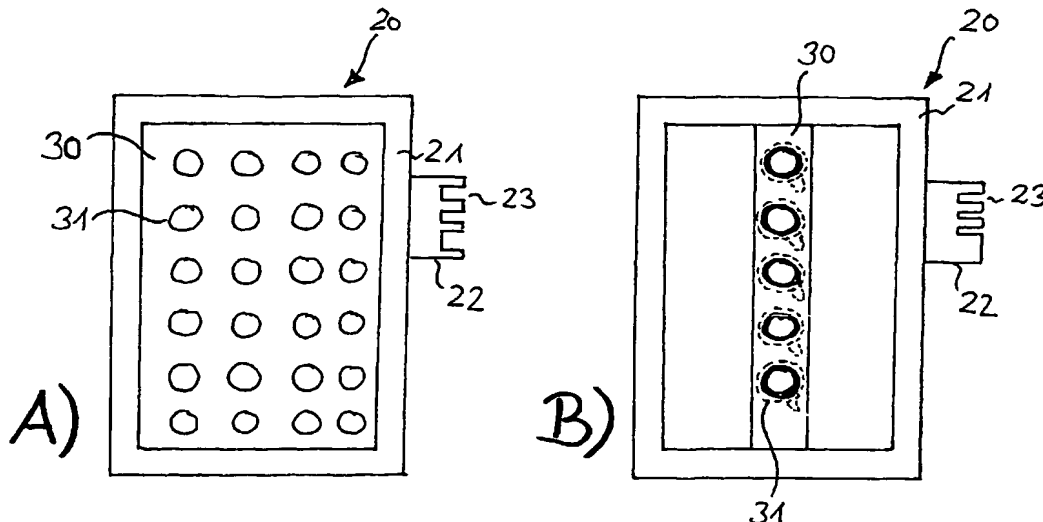
(74) Anwalt: BANZER, Hans-Jörg; KRAUS & WEISERT,
Thomas-Wimmer-Ring 15, 80539 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN,
CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,
MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH,
PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: SAMPLE HOLDER FOR A RECEPTION DEVICE RECEIVING BIOLOGICAL OBJECTS AND MICROSCOPE
SYSTEM DESIGNED TO OPERATE USING ONE SUCH SAMPLE HOLDER

(54) Bezeichnung: HALTER FÜR EINE AUFNAHMEVORRICHTUNG ZUM AUFNEHMEN VON BIOLOGISCHEN OBJEK-
TEN UND MIKROSKOPSYSTEM FÜR DEN BETRIEB MIT EINEM DERARTIGEN HALTER



(57) Abstract: The invention relates to a sample holder (20) for reception devices receiving biological objects which can be used, for example, as collecting devices (30) in laser microdissection systems. Said sample holder (20) has a coding (23) by which means it can be clearly identified in the laser microdissection system, in order to then be able to correctly allocate biological objects (43) to be dissected to individual reception containers (31) of the identified reception device (30) or the identified sample holder (20), in such a way that a fully automatic microdissection process can be carried out.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

BEST AVAILABLE COPY

WO 2004/045768 A1



(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

— vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

(57) Zusammenfassung: Es wird ein Probenhalter (20) für Aufnahmevorrichtungen zur Aufnahme von biologischen Objekten, welche beispielsweise als Auffangvorrichtungen (30) in Laser-Mikrodissektionssystemen zum Einsatz kommen können, beschrieben, wobei der Probenhalter (20) eine Codierung (23) aufweist, mit deren Hilfe eindeutig der Probenhalter in dem Laser-Mikrodissektionssystem identifiziert werden kann, um anschließend eine Zuordnung von zu dissektierenden biologischen Objekten (43) zu einzelnen Aufnahmebehältern (31) der identifizierten Aufnahmevorrichtung (30) bzw. des identifizierten Probenhalters (20) korrekt zur Durchführung eines vollautomatischen Mikrodissektionsvorgangs realisieren zu können.

Halter für eine Aufnahmevorrichtung zum Aufnehmen von biologischen Objekten und Mikroskopsystem für den Betrieb mit einem derartigen Halter

Die vorliegende Erfindung betrifft einen Halter für eine Aufnahmevorrichtung zum Aufnehmen von biologischen Objekten, wobei die Aufnahmevorrichtung wiederum einen oder mehrere Aufnahmebehälter zum Aufnehmen der biologischen Objekte aufweisen kann. Darüber hinaus betrifft die vorliegende Erfindung ein Mikroskopsystem, welches für den Betrieb mit einem derartigen Halter bzw. einer derartigen Aufnahmevorrichtung ausgestaltet ist. Insbesondere betrifft die vorliegende Erfindung ein als Laser-Mikrodissektionssystem ausgestaltetes Mikroskopsystem, wobei der Halter zum Halten einer als Auffangvorrichtung von mit Hilfe des Laser-Mikrodissektionssystems aus einem biologischen Material dissektierten biologischen Objekten ausgestaltet ist.

Laser-Mikrodissektionssysteme werden zur Bearbeitung, Separierung und/oder Gewinnung von mikroskopisch kleinen biologischen Objekten eingesetzt. Ein derartiges herkömmliches Laser-Mikrodissektionssystem der Anmelderin ist beispielsweise in der WO 97/29355 A1 oder WO 01/73398 A1 beschrieben. Mit den in diesen Druckschriften offenbarten Laser-Mikrodissektionssystemen können einzelne biologische Objekte, welche auf einem planaren Objektträger angeordnet sind, rechnergestützt selektiert und mit einem Laserstrahl bearbeitet werden. Dabei kann ein selektiertes Objekt von dem umgebenden Material beispielsweise mit Hilfe des Laserstrahls zumindest teilweise abgetrennt werden, um anschließend das Objekt durch

-2-

einen Laser-induzierten Transportprozess mit Hilfe eines Laserschusses, welcher auf das biologische Objekt gerichtet wird, von dem Objektträger zu einer Auffangvorrichtung zu katapultieren. Als Objektträger kann beispielsweise ein Glasobjektträger, auf den eine Polymermembran mit dem zu bearbeitenden biologischen Material gespannt ist, verwendet werden. Ebenso ist auch die Verwendung von Nur-Membran-Präparaten möglich.

Das zuvor beschriebene Verfahren ermöglicht die Separierung, Sortierung und Gewinnung von biologischen Objekten, wobei im Rahmen der vorliegenden Patentanmeldung unter dem Begriff „biologische Objekte“ vor allem lebende oder fixierte biologische Zellen oder Zellbestandteile verstanden werden, welche Bestandteil eines flüssigen oder festen biologischen Materials, wie beispielsweise eines Zellgewebes, eines Abstriches oder einer Zellkultur etc., sind. Mit Hilfe des zuvor beschriebenen Verfahrens können die jeweils selektierten biologischen Objekte gezielt mit einer ausgewählten Substanz durch berührungslose Laser-Mikroinjektion beladen und anschließend die erfolgreich injizierten biologischen Objekte aussortiert werden. Die biologischen Objekte können nebeneinander auf dem Objektträger aufgebracht sein, wobei der zuvor beschriebene Bearbeitungsvorgang innerhalb kurzer Zeit und berührungslos durchgeführt werden kann. Die Überlebensfähigkeit bzw. Morphologie der biologischen Objekte ist dabei gewährleistet, d.h. die biologischen Objekte werden durch den Mikroinjektionsvorgang und durch den Abtrenn- und Katapultierprozess nicht geschädigt bzw. beeinträchtigt.

Im Prinzip kann der zuvor erläuterte Laser-induzierte Transportprozess, d.h. das Herauskatapultieren einzelner, zuvor selektierter biologischer Objekte aus dem jeweils umgebenden

biologischen Material, auch ohne vorhergehende Freipräparation des jeweils selektierten biologischen Objekts erfolgen, wenn die Laserenergie und/oder der Laserfokus im Moment des Setzens des separaten Laserschusses derart gewählt wird bzw.
5 gewählt werden, dass die daraus resultierende Impulskraft dieses Laserschusses zum Herauslösen des entsprechenden biologischen Objekts aus der umgebenden Masse und für den Transportvorgang zu der Auffangvorrichtung ausreicht.

Da das zuvor beschriebene Verfahren manuell nur relativ aufwändig mit der gewünschten Präzision durchgeführt werden
10 kann, sind die Laser-Mikrodissektionssysteme herkömmlicherweise rechnergestützt ausgestaltet, d.h. das Ausschneiden und/oder Katapultieren eines selektierten Objekts, das so genannte Dissektieren, erfolgt rechnergestützt, so dass die Laserlichtquelle, welche den zum Schneiden und/oder Katapultieren
15 dienenden Laserstrahl erzeugt, automatisch angesteuert und die zum Schneiden und/oder Katapultieren erforderliche Relativbewegung zwischen dem Laserstrahl und dem das biologische Material aufweisenden Objektträger automatisch herbeigeführt und gesteuert wird. Insbesondere ist eine rechnergestützte Selektion bzw. Markierung der auf dem Objektträger
20 befindlichen gewünschten biologischen Objekten möglich, so dass diese nachfolgend automatisch mit dem Laser-Mikrodissektionssystem bearbeitet werden können. Das Laser-Mikrodissektionssystem umfasst hierzu einen Bildschirm oder
25 Monitor, auf dem ein von einer digitalen Kamera aufgenommenes Videobild des auf dem Objektträger befindlichen biologischen Materials dargestellt wird. Der Benutzer kann auf dem Bildschirm bzw. dem Videobild mit Hilfe entsprechender Graphiktools eine gewünschte Schnittkurve zeichnen, welche anschließend rechnergestützt automatisch mit dem Laserstrahl nachgefahren wird, um das somit selektierte biologische Objekt aus-
30

zuschneiden. Auf ähnliche Art und Weise kann auf dem Bildschirm bzw. auf dem Videobild auch ein gewünschtes biologisches Objekt zum Herauskatapultieren markiert werden, wobei anschließend der separate Laserimpuls bzw. Laserschuss an der
5 gewünschten Stelle auf dem biologischen Material ersetzt wird.

Obwohl bei den zuvor erläuterten bekannten Laser-Mikrodissektionssystemen bereits grundsätzlich eine rechnergestützte und automatisierte Verarbeitung des auf dem Objektträger befindlichen biologischen Materials möglich ist, besteht ein grundsätzliches Bedürfnis nach einem vollautomatisch durchführbaren Mikrodissektionsprozess. Dies betrifft jedoch nicht nur Laser-Mikrodissektionssysteme, sondern allgemein Mikroskopsysteme, bei denen eine Untersuchung bzw. Bearbeitung von biologischen Objekten möglichst automatisiert
10 durchgeführt werden soll.

Der vorliegenden Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, eine Möglichkeit bereitzustellen, welche eine automatische Bearbeitung bzw. Untersuchung von biologischen Objekten mit
20 Hilfe eines Mikroskopsystems, insbesondere eines Laser-Mikrodissektionssystems, verbessert und eine vollautomatische Beobachtung bzw. Bearbeitung von biologischen Objekten mit Hilfe derartiger Mikroskopsysteme ermöglicht.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß durch einen Halter für eine Aufnahmevorrichtung zum Aufnehmen von biologischen Objekten mit den Merkmalen des Anspruches 1 bzw. ein für den Betrieb mit einem derartigen Halter bzw. einer derartigen Aufnahmevorrichtung ausgestaltetes Mikroskopsystem mit den Merkmalen des Anspruches 11 gelöst. Die Unteransprüche definieren
25 jeweils bevorzugte und vorteilhafte Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung.

Erfindungsgemäß wird ein Halter für eine Aufnahmevorrichtung, welche zum Aufnehmen eines oder mehrerer biologischer Objekte vorgesehen ist, vorgeschlagen, wobei der Halter derart ausgestaltet ist, dass er bei einem Einsatz in einem Mikroskopsystem die Aufnahmevorrichtung in dem Mikroskopsystem auf geeignete Art und Weise zur Beobachtung bzw. Bearbeitung mit Hilfe des Mikroskopsystems hält. Dabei weist der Halter eine Codierung auf, mit deren Hilfe der Halter bzw. die davon gehaltene Aufnahmevorrichtung eindeutig identifiziert werden kann. Insbesondere kann die Codierung derart sein, dass mit Hilfe der Codierung unterschiedliche Typen von Aufnahmevorrichtungen bzw. Haltern unterschieden werden können.

Die Codierung kann dabei sowohl optisch als auch induktiv oder kapazitiv abtastbar ausgestaltet sein. Bei der von dem Halter gehaltenen Aufnahmevorrichtung kann es sich im Prinzip um eine Aufnahmevorrichtung beliebiger Art mit einem oder mehreren Aufnahmebehältern zum Aufnehmen von biologischen Objekten handeln. Insbesondere kann die Aufnahmevorrichtung Kappen von Eppendorf-Behältern, Röhrchen („Tubes“) von Eppendorf-Behältern, Streifen oder matrixartige Anordnungen („Arrays“) derartiger Kappen oder Röhrchen, ciphergene Chips, Wafer oder Mikrotiterplatten etc. umfassen.

Das erfindungsgemäß vorgeschlagene Mikroskopsystem umfasst Identifizierungsmittel zur Identifizierung einer von einem erfindungsgemäßen Halter gehaltenen Aufnahmevorrichtung durch Auswertung der entsprechenden Codierung und Steuermittel zur automatischen aufnahmevorrichtungsspezifischen Einstellung mindestens einer Funktion des Mikroskopsystems in Abhängigkeit von der identifizierten Aufnahmevorrichtung. Bei dieser aufnahmevorrichtungsspezifischen Funktion des Mikroskopsystems kann es sich beispielsweise um die automatische Darstel-

lung einer schematischen Abbildung der identifizierten Aufnahmevorrichtung auf eine Wiedergabeeinrichtung des Mikroskops handeln, so dass ein Benutzer anschließend spezifisch für die identifizierte Aufnahmevorrichtung einzelne Aufnahme-
5 behälter für eine Beobachtung oder Bearbeitung mit dem Mikroskopsystem auswählen und anschließend selektiv anfahren kann.

Bei dem erfindungsgemäßen Mikroskopsystem handelt es sich vorzugsweise um ein Laser-Mikrodissektionssystem, wobei mit Hilfe eines Laserstrahls selektiv biologische Objekte eines
10 auf einem Objektträger angeordneten biologischen Materials dissektiert und in die Aufnahmevorrichtung befördert werden. Wie zuvor beschrieben worden ist, kann dies insbesondere durch Setzen einzelner Laserschüsse auf die zu dissektierenden biologischen Objekte geschehen, um die selektierten bio-
15 logischen Objekte in gewünschte Aufnahmebehälter der identifizierten Aufnahmevorrichtung zu katapultieren. Nachdem das Laser-Mikrodissektionssystem den verwendeten Halter bzw. die davon gehaltene Aufnahmevorrichtung identifiziert hat, kann eine Abbildung der identifizierten Aufnahmevorrichtung auf
20 einer Wiedergabeeinrichtung dargestellt werden, wobei ein Benutzer anschließend rechnergestützt festlegen kann, welche biologischen Objekte des auf dem Objektträger befindlichen biologischen Materials in welche Aufnahmebehälter der identifizierten Aufnahmevorrichtung befördert werden sollen. Dies
25 kann beispielsweise mit Hilfe einer Bearbeitungsliste, welche von dem jeweiligen Benutzer rechnergestützt erstellt wird, erfolgen, wie sie in der DE 101 52 404 A1 der Anmelderin beschrieben und offenbart ist, wobei auf diese Druckschrift diesbezüglich vollinhaltlich verwiesen wird.

30 Vorzugsweise ist das Laser-Mikrodissektionssystem auch derart ausgestaltet, das nach einem Dissektionsvorgang mit Hilfe der

in dem Laser-Mikrodissektionssystem ohnehin vorgesehenen Bildaufnahmemittel über die identifizierte Aufnahmevorrichtung gefahren wird, um ein oder mehrere Übersichtsbilder der Aufnahmevorrichtung mit den darin befindlichen Dissektaten zu erzeugen, welche anschließend auf der Wiedergabeeinrichtung dargestellt werden können, so dass durch Auswertung der dargestellten Übersichtsbilder die Qualität der Dissektion beurteilt werden kann. Hierzu ist auch hilfreich, wenn das Laser-Mikrodissektionssystem automatisch abhängig von der identifizierten Aufnahmevorrichtung ein Dissektationsprotokoll erstellt.

Aufgrund der erfindungsgemäß realisierten automatischen Erkennung von verwendeten Haltern bzw. Aufnahmevorrichtungen können vollautomatische Mikrodissektionsprozesse realisiert werden. Die Softwareparameter der entsprechenden Laser-Mikrodissektionssysteme lassen sich einfach zur Einbindung weiterer Halter bzw. Aufnahmevorrichtungen anpassen. Bedienungsfehler können vermieden und der Arbeitsablauf kann beschleunigt werden. Darüber hinaus ist eine Standardisierung und gute Reproduzierbarkeit jedes Arbeitsablaufs gewährleistet.

Die Erfindung lässt sich besonders vorteilhaft mit der bereits zuvor beschriebenen listenartigen Zusammenfassung zu bearbeitender biologischer Objekte kombinieren, wobei bei Gruppierung der gewünschten Objekte, beispielsweise abhängig von ihrem Typ, ein vollautomatisches Bearbeiten und im Falle eines Laser-Mikrodissektionssystems Auffangen bzw. Sammeln der gewünschten Dissektate in den Aufnahmebehältern der identifizierten Aufnahmevorrichtung ohne aufwändiges Wechseln der Aufnahmevorrichtungen bzw. der darin enthaltenen Aufnahmebehälter erzielt werden kann. Das Mikroskopsystem erkennt auto-

5 matisch die jeweils verwendete Auffangvorrichtung, beispielsweise eine Mikrotiterplatte, und reagiert mit einem entsprechenden automatisierten Funktionsablauf, welcher von einem entsprechenden Bildschirmaufbau über die Zuordnung selektierter biologischer Objekte zu einzelnen Aufnahmebehältern der identifizierten Aufnahmevorrichtung bis hin zu dem automatischen und rechnergestützten Anfahren der gewünschten Aufnahmebehälter der identifizierten Aufnahmevorrichtung führen kann.

10 Die Erfindung ist nicht auf die Anwendung in Laser-Mikrodissektionssystemen beschränkt, sondern kann grundsätzlich auch auf Halter für Aufnahmevorrichtungen angewendet werden, welche in automatisierten bzw. rechnergestützten Mikroskopsystemen zum Einsatz kommen können.

15 Die vorliegende Erfindung wird nachfolgend näher unter Bezugnahme auf die beigefügte Zeichnung anhand bevorzugter Ausführungsbeispiele erläutert.

Fig. 1 zeigt den Aufbau eines Laser-Mikrodissektionssystems gemäß einem bevorzugten Ausführungsbeispiel der vorliegenden Erfindung,

Fig. 2A und Fig. 2B zeigen Halter gemäß einem Ausführungsbeispiel der vorliegenden Erfindung mit einer optisch abtastbaren Codierung in Form von kammartigen Vorsprüngen,

25 Fig. 3 zeigt einen Halter gemäß einem Ausführungsbeispiel der vorliegenden Erfindung mit einer optisch abtastbaren Codierung in Form eines Barcodes,

Fig. 4 zeigt einen Halter gemäß einem Ausführungsbeispiel der vorliegenden Erfindung mit einer Codierung in Form eines kapazitiven oder induktiven Transponders,

Fig. 5 zeigt schematisch eine Ansicht eines Arms einer Verstellvorrichtung eines erfindungsgemäßen Laser-Mikrodissektionssystems, wobei dieser Arm zur Kopplung mit einem erfindungsgemäßen Halter ausgestaltet ist, und

- 5 Fig. 6 zeigt einen vereinfacht dargestellten Bildschirmaufbau eines erfindungsgemäßen Laser-Mikrodissektionssystems.

Das in Fig. 1 gezeigte Laser-Mikrodissektionssystem umfasst eine Laservorrichtung 4 mit einer Laserlichtquelle zur Erzeugung eines Laserstrahls. Des Weiteren ist in der Laservorrichtung 4 eine Optik 6 untergebracht, über welche der Laserstrahl in ein Mikroskop 1 eingekoppelt und der Laserfokus in der Objektebene auf den optischen Fokus des Mikroskops 1 abgestimmt werden kann. Bei der Laserlichtquelle kann es sich beispielsweise um einen gepulsten UV-Stickstofflaser handeln.

- 15 Zur präzisen Verstellung der Laserenergie ist ein Quarzfilter 5 senkrecht zum Laserstrahlpfad angeordnet, welcher zur Einstellung der Laserenergie manuell oder auch automatisch verstellt werden kann. Neben der Einstellung der Laserenergie kann auch der Laserfokus unabhängig von dem Mikroskopfokus eingestellt werden, d.h. der Brennpunkt des Laserstrahls kann in z-Richtung relativ zu der Objektebene des Mikroskops 1 verschoben werden, wobei zu diesem Zweck die in Fig. 1 gezeigten Linsen 6 manuell oder automatisch verstellt werden können.

- 25 Der Laserstrahl wird über mehrere beschichtete Strahlteiler in das Mikroskop 1 eingekoppelt und zu einem Objektiv 12 hin abgelenkt. Der Durchmesser des auf der Objektebene auftreffenden Laserstrahls ist maßgeblich von der numerischen Apertur des Objektivs 12 abhängig.

Der über das Objektiv 12 emittierte Laserstrahl trifft schließlich auf einen motorisierten und computergesteuerten Mikroskop- oder Trägertisch 3, auf dem ein Objektträger mit einem zu bearbeitenden biologischen Material angeordnet ist.

5 Oberhalb des Trägertisches 3 befindet sich eine motorisierte und computergesteuerte Verstellvorrichtung 2, welche auch als Manipulator bezeichnet wird. Der Trägertisch 3 ist vorzugsweise in x- und y-Richtung verfahrbar, wobei grundsätzlich auch eine Verstellung in z-Richtung denkbar ist. An der Ver-

10 stellvorrichtung 2 kann eine Nadel oder Mikropipette zur Mikroinjektion von biologischen Objekten angebracht sein. Im Rahmen der vorliegenden Erfindung wird jedoch davon ausgegangen, dass an der Verstellvorrichtung 2 eine Auffangvorrichtung angebracht ist, um von dem Objektträger wegkatapultierte

15 biologische Objekte aufzufangen. Die motorisierte Verstellvorrichtung 2 kann sowohl in x/y-Richtung als auch in z-Richtung rechnergestützt verfahren werden.

Bei dem Mikroskop 1 kann es sich um ein beliebig ausgestaltetes Mikroskop handeln. Das in Fig. 1 dargestellte Laser-

20 Mikrodissektionssystem besitzt einen inversen Aufbau, bei dem der Laserstrahl von unten auf den Objektträger trifft, um darauf befindliche biologische Objekte nach oben zu der Auffangvorrichtung, welche in Fig. 1 nicht dargestellt ist, zu katapultieren. Bei einem aufrechten Aufbau trifft hingegen

25 der Laserstrahl von oben auf den Objektträger, so dass aus dem biologischen Material herausgelöste biologische Objekte nach unten auf die unterhalb des Objektträgers befindliche Auffangvorrichtung fallen.

Das Mikroskop 1 ist mit einer Videokamera, insbesondere einer

30 CCD-Videokamera („Charge Coupled Device“) ausgestattet, welche insbesondere den Bereich des Objektträgers oberhalb des

-11-

Objektivs 12 aufnimmt. Das Videosignal dieser Videokamera wird einem handelsüblichen Computer 7 zugeführt und dort verarbeitet, so dass das entsprechende Videobild in Echtzeit auf einem Bildschirm oder einem Monitor 8 des Computers 7 dargestellt werden kann. Ebenso ist ein Speichern einzelner Videobilder auf einem geeigneten Speichermedium des Computers 7 möglich. Des Weiteren kann mit dem Computer 7 auch ein analoger oder digitaler Videorekorder zum Aufzeichnen der von der Videokamera gelieferten Videobilder gekoppelt sein.

Wie nachfolgend näher beschrieben wird, sind auf dem Computer 7 bzw. durch die darauf ablaufende Software verschiedene Funktionen implementiert, die sowohl eine rechnergestützte, d.h. automatische, Ansteuerung der Laservorrichtung 4 als auch des Mikroskops 1 ermöglichen, so dass beispielsweise der Laser automatisch aktiviert und die Verstellvorrichtung 2 bzw. der Trägertisch 3 automatisch verfahren werden können. Ebenso ermöglichen diese rechnergestützten Funktionen eine besonders benutzerfreundliche Auswahl und Bearbeitung gewünschter biologische Objekte des auf dem Objektträger befindlichen biologischen Materials. Zur Einstellung bzw. Auswahl dieser Funktionen sind herkömmliche Eingabemittel, wie beispielsweise eine Tastatur 9 oder eine Computermouse 10, vorgesehen. Des Weiteren kann der Laservorrichtung 4 ein Fußschalter 11 zugeordnet sein, durch dessen Betätigung der Laser manuell aktiviert werden kann.

In Fig. 2A ist eine Aufnahmevorrichtung 30, bei dem dargestellten Beispiel in Form einer Mikrotiterplatte mit mehreren Vertiefungen, so genannten „Wells“, gezeigt, welche zum Einsatz in dem in Fig. 1 dargestellten Laser-Mikrodissektionssystem vorgesehen ist. Die Aufnahmevorrichtung 30 ist dabei von einem umlaufenden Rahmen 21 eines Hal-

-12-

ters 20 gehalten, wobei von einer Seite des Rahmens 21 ein Ansatz 22 mit kammartigen Vorsprüngen 23 hervorsteht. Dieser Ansatz 22 dient einerseits zum Befestigen bzw. Anbringen des Halters 20 mit der Aufnahmevorrichtung 30 an der in Fig. 1 gezeigten Verstellvorrichtung 2. Andererseits dienen die kammartigen Vorsprünge 23 dieses Ansatzes 22 als Codierung, welche den Typ des Halters 20 bzw. der davon gehaltenen Aufnahmevorrichtung 30 identifiziert. Die Aufnahmevorrichtung 30 kann lediglich in den Rahmen 21 des Halters 20 eingelegt oder aber auch darin eingespannt sein. Die als Vertiefungen ausgebildeten Aufnahmebehälter 31 der Aufnahmevorrichtung 30 dienen zum Aufnehmen der mittels Laserbestrahlung aus dem auf dem Objektträger befindlichen biologischen Material herausgelösten Dissektate.

In Fig. 5 ist beispielhaft ein Arm 30 der in Fig. 1 gezeigten Verstellvorrichtung 2 dargestellt. Der Arm 30 weist eine Aufnahme 31 auf, in welche der Ansatz 22 des Halters 20 einzuführen ist. Im Bereich dieser Aufnahme 31 ist eine streifen- oder matrixartige Anordnung 32 mit Lichtquellen, beispielsweise Leuchtdioden, angeordnet, wobei gegenüberliegend zu dieser Anordnung 32 eine entsprechende Anordnung 33 mit Photodioden vorgesehen ist. Die Lichtquellen der Anordnung 32 emittieren Lichtstrahlen, welche von den Photodioden der Anordnung 33 empfangen und in elektrische Signale umgesetzt werden. Abhängig von der Anordnung der kammartigen Vorsprünge 23 des Ansatzes 22 des jeweils verwendeten Halters 20 werden einzelne dieser Lichtstrahlen entweder unterbrochen oder durchgelassen, so dass abhängig von den von den einzelnen Photodioden der Anordnung 33 erzeugten elektrischen Signale durch Vergleich des Signalmusters mit einem vorgegebenen, in dem Computer 7 abgespeicherten Signalmuster auf den Typ des Halters 20 bzw. der davon gehaltenen Aufnahmevorrichtung 30

geschlossen werden kann. Selbstverständlich sind auch andere Möglichkeiten zur optischen Abtastung der durch die kammartigen Vorsprünge 23 gebildeten Codierung möglich. So können beispielsweise Bilderfassungsmittel vorgesehen sein, welche
5 ein Bild der kammartigen Vorsprünge aufnehmen, so dass der Computer 7 bzw. die darin implementierte Software automatisch auf den Typ des verwendeten Halters 20 bzw. der verwendeten Aufnahmevorrichtung 30 schließen kann.

In Fig. 2B ist als Beispiel für eine Aufnahmevorrichtung 30
10 ein Streifen mit mehreren darin eingesetzten Kappen von Eppendorf-Behältern als Aufnahmebehälter 31 dargestellt.

Auch in diesem Fall umfasst der am Rahmen 21 angebrachte Ansatz 22 als Codierung kammartige Vorsprünge, welche sich bezüglich ihrer Ausgestaltung und Anordnung ersichtlich von den
15 in Fig. 2A dargestellten kammartigen Vorsprüngen unterscheiden, so dass durch Auswertung dieser kammartigen Vorsprünge eine eindeutige Unterscheidung zwischen den beiden Aufnahmevorrichtungen 30 möglich ist.

Fig. 3 zeigt ein weiteres Beispiel einer optisch abtastbaren
20 Codierung, wobei auf den in dieser Figur dargestellten Ansatz 22 ein Barcode als Codierung 23 aufgebracht ist.

Selbstverständlich ist die vorliegende Erfindung nicht auf optisch abtastbare Codierungen beschränkt, sondern es kann im Prinzip jede beliebige Art von Codierung eingesetzt werden.

25 Besonders vorteilhaft ist die Verwendung von induktiven oder kapazitiven Transpondern, welche wie in Fig. 4 gezeigt, als Codierung 23 in den Ansatz 22 integriert sein können, wobei diese Transponder beispielsweise bei Einsetzen in die in Fig.
5 gezeigte Aufnahme 31 ein darin erzeugtes elektromagnetisches Feld definiert verändern können, um aufgrund der sich
30

-14-

daraufhin einstellenden Veränderung des elektromagnetischen Felds auf den Typ des verwendeten Halters 20 bzw. der verwendeten Aufnahmevorrichtung schließen zu können.

Im Prinzip kann die Codierung an jeder beliebigen Stelle des Halters 20 oder auch unmittelbar auf der Aufnahmevorrichtung 30 vorgesehen sein. Der Halter 20 und die Aufnahmevorrichtung können auch einteilig ausgestaltet sein. Ebenso ist denkbar, unterschiedliche Codierungsmöglichkeiten miteinander zu kombinieren, um eine absolute Erkennung eines jeden zur Verfügung stehenden Halters oder verschiedener Aufnahmevorrichtungen zu erzielen. Beispielhaft seien hierfür neben den gängigen Haltern für die Lasermikrodissektion auch Halter erwähnt, die verschiedene MALDI-Platten („Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation“) oder unterschiedliche SELDI-Träger („Surface Enhanced Laser Desorption/Ionisation“), die in sich codiert aber baugleich sind (interne Codierung durch geeignete Zweitmaßnahmen zur Erkennung), aufweisen.

Die grundsätzliche Bedienung des in Fig. 1 gezeigten Laser-Mikrodissektionssystems mit einem Halter bzw. einer Aufnahmevorrichtung der zuvor beschriebenen Art ist wie folgt.

Nach Anbringen einer gewünschten Aufnahmevorrichtung 30 mittels des entsprechenden Halters 20 an der Verstellvorrichtung 2 des Laser-Mikrodissektionssystems wird der verwendete Halter 20 bzw. die verwendete Aufnahmevorrichtung 30 wie beschrieben automatisch identifiziert, und der Computer 7 reagiert auf die identifizierte Aufnahmevorrichtung mit einem entsprechenden Bildschirmaufbau, wie er beispielhaft in Fig. 6 dargestellt ist.

Wie aus Fig. 6 ersichtlich ist, wird von der Software des Computers 7 auf dem Bildschirm 8 in einem ersten Bildschirm-

bereich bzw. Fenster 40 das von der digitalen Videokamera des Mikroskops 1 aufgenommene Videobild des auf dem Objektträger befindlichen biologischen Materials, welches eine Vielzahl von biologischen Objekten 43 enthält, dargestellt. In einem
5 zweiten Bildschirmabschnitt bzw. Fenster 44 wird eine schematische Abbildung der identifizierten Aufnahmevorrichtung dargestellt, wobei bei dem in Fig. 6 dargestellten Ausführungsbeispiel davon ausgegangen wird, dass es sich bei der identifizierten Aufnahmevorrichtung um eine Mikrotiterplatte mit
10 einer in Fig. 6 dargestellten Anzahl von Vertiefungen als Aufnahmebehälter für die zu dissektierenden biologischen Objekte 43 handelt. In einem weiteren Bildschirmabschnitt bzw. Fenster 45 wird eine Liste der in der zuvor beschriebenen Druckschrift DE 101 52 404.8 A1 beschriebenen Art dargestellt,
15 mit deren Hilfe ein Benutzer einzelne selektierte biologische Objekte 43 gewünschten Aufnahmebehältern der identifizierten Aufnahmevorrichtung zuordnen kann. In Fig. 6 sind darüber hinaus verschiedene Schaltflächen bzw. Softwarefunktionen 46 dargestellt, mit deren Hilfe ein Benutzer beispielsweise eine einmal erstellte Liste 45 speichern, löschen, exportieren oder einen Mikrodissektionsvorgang starten
20 kann etc.

Der Benutzer des Laser-Mikrodissektionssystems kann nun in dem Bildschirmabschnitt 40 mit Hilfe von Graphiktools der
25 Software des Laser-Mikrodissektionssystems einzelne zu bearbeitende biologische Objekte 43 markieren, wie dies in Fig. 6 beispielhaft anhand von Schnittlinien 41 und 42, welche um die gewünschten biologischen Objekte gezeichnet worden sind, dargestellt ist. Wie in der zuvor beschriebenen Druckschrift
30 offenbart ist, kann für jedes zu bearbeitende biologische Objekt festgelegt werden, wie es bearbeitet werden soll, d.h. es kann beispielsweise unterschieden werden, ob es lediglich

ausgeschnitten, ausgeschnitten und anschließend mit einem separaten Laserschuss katapultiert oder lediglich durch Setzen eines einzelnen Laserschusses unmittelbar katapultiert werden soll. Die Bearbeitungsart kann für jedes selektierte biologische Objekt in der Liste 45 festgehalten werden. Darüber hinaus können mit Hilfe der Liste 45 die ausgewählten biologischen Objekte gruppenweise zusammengefasst werden, wobei eine Zusammenfassung nach Objektgruppen bzw. Markierungen/Farben möglich ist. Das heißt sämtliche mit einer bestimmten Farbe oder einer bestimmten Markierung, beispielsweise einem in Fig. 6 gezeigten Quadrat oder einem in Fig. 6 gezeigten Dreieck, versehenen biologischen Objekte werden jeweils in einer Gruppe zusammengefasst. Die Gesamtzahl der in einer Gruppe zusammengefassten selektierten biologischen Objekte sowie deren Gesamtfläche wird vorzugsweise ebenfalls in der Liste 45 für jede Gruppe angegeben. Die Liste 45 kann wie beschrieben abgespeichert werden, wobei vorzugsweise für jedes in der Liste enthaltene und zuvor selektierte biologische Objekt auch die Position in Bezug auf eine zuvor gewählte Referenzposition des jeweiligen biologischen Materials gespeichert wird, um bei einer erneuten Verwendung eines Objektträgers mit dem bereits zuvor untersuchten biologischen Material sicherzustellen, dass die dort ausgewählten und markierten biologischen Objekte korrekt angefahren bzw. positioniert werden können.

Jedes einzelne Element bzw. biologische Objekt der Liste 45 kann vorzugsweise separat mit dem Laserstrahl mit Hilfe der Schaltflächen 46 bearbeitet werden. Darüber hinaus ist selbstverständlich auch möglich, dass die in der Liste 45 enthaltenen biologischen Objekte gruppenweise bearbeitet werden, d.h. die in einer Gruppe von dem Benutzer zusammengefassten biologischen Objekte werden anschließend durch auto-

5 matische Ansteuerung der Laservorrichtung 4 sowie des Träger- bzw. Mikroskoptisches 3 automatisch angefahren, um sie in gewünschte Aufnahmebehälter 31 der von der Verstellvorrichtung 2 mit Hilfe des Halters 20 gehaltenen Aufnahmevorrichtung 30 zu befördern.

Das Zusammenfassen von selektierten biologischen Objekten in Gruppen ist insbesondere vorteilhaft, um biologische Objekte desselben Typs gruppenweise bearbeiten und gegebenenfalls in einem gemeinsamen Aufnahmebehälter oder in eine gemeinsame Gruppe von Aufnahmebehältern zu katapultieren. Sollen beispielsweise Tumorzellen in einem Aufnahmebehälter und gesunde Zellen in einem weiteren Aufnahmebehälter platziert werden, empfiehlt es sich, auf dem Bildschirmabschnitt 40 die gewünschten Zellen bzw. biologischen Objekte derart zu markieren, dass die Schnittlinien der Tumorzellen in einer ersten Farbe bzw. mit einer ersten Markierung und die Schnittlinien der gesunden Zellen mit einer zweiten Farbe bzw. mit einer zweiten Markierung gezeichnet werden. In der Liste 45 würden dann die Tumorzellen und die gesunden Zellen jeweils in getrennten Gruppen zusammengefasst erscheinen, so dass durch gruppenweise Bearbeitung anschließend sämtliche Tumorzellen mit dem Laserstrahl bearbeitet und - abhängig von der jeweils eingestellten Laserfunktion - in gewünschte Aufnahmebehälter katapultiert werden können. Anschließend können dann die gesunden Zellen in separate Aufnahmebehälter gesammelt werden.

Die Darstellung der von der Software des Laser-Mikrodissektionssystems identifizierten Aufnahmevorrichtung in dem Bildschirmabschnitt 44 ist insbesondere vorteilhaft, um dem Benutzer eine korrekte Zuordnung der zu bearbeitenden biologischen Objekte 43 zu den einzelnen zur Verfügung stehenden Aufnahmebehältern der identifizierten Aufnahmevorrich-

-18-

tung 30 zu ermöglichen. Für jedes gemäß der in dem Bildschirmabschnitt 45 dargestellten Liste zu bearbeitende biologische Objekt legt der Benutzer mit Hilfe entsprechender Softwarefunktionen fest, in welche Aufnahmebehälter 31 der identifizierten Aufnahmevorrichtung 30 das gewünschte biologische Objekt transportiert werden soll. Selbstverständlich ist es auf diese Weise auch möglich, einzelnen selektierten biologischen Objekten wie beschrieben einem gemeinsamen Aufnahmebehälter zuzuordnen, um somit beispielsweise alle gesunden Zellen in einem ersten Aufnahmebehälter und alle Tumorzellen in einem zweiten Aufnahmebehälter zu sammeln etc. Die Zuordnung der selektierten biologischen Objekte zu den zur Verfügung stehenden Aufnahmebehältern kann beispielsweise einfach dadurch erfolgen, dass bei Erstellung der Liste 45 zu jedem selektierten biologischen Objekt der gewünschte Aufnahmebehälter 31 der identifizierten Aufnahmevorrichtung 30 mit der Computermouse 10 angeklickt und somit ausgewählt wird. Ebenso kann auf diese Weise eine Zuordnung von mehreren selektierten biologischen Objekten der Liste 45 zu einem gemeinsamen Aufnahmebehälter erfolgen.

Die automatische Identifizierung der verwendeten Aufnahmevorrichtung sowie die Darstellung einer entsprechenden schematischen Abbildung der identifizierten Aufnahmevorrichtung in dem Bildschirmabschnitt 44 gewährleistet, dass Bedienungsfehler vermieden werden, da der Benutzer automatisch über die verwendete Aufnahmevorrichtung informiert wird, wobei abhängig von der identifizierten Aufnahmevorrichtung nur die dieser identifizierten Aufnahmevorrichtung zugeordneten Aufnahmebehälter mit der korrekten Anordnung in dem Bildschirmabschnitt 44 dem Benutzer zur Mikrodisektion angeboten werden, so dass insgesamt der Arbeitsablauf beschleunigt werden kann.

Nachdem der Benutzer die Zuordnung der selektierten biologischen Objekte zu den gewünschten Aufnahmebehältern 31 der identifizierten Aufnahmevorrichtung 30 festgelegt hat, kann der Benutzer durch Betätigen einer entsprechenden Schaltfläche 46 („Button“) den automatischen Mikrodisektionsvorgang 5 starten, wobei dann für die in der Liste 45 enthaltenen und zuvor selektierten biologischen Objekte durch entsprechende Ansteuerung der Laservorrichtung 4 sowie des Trägertisches 3 die jeweils gewünschte Bearbeitung durchgeführt wird. Nachdem 10 in der Liste 45 zu jedem selektierten biologischen Objekt auch der gewünschte Aufnahmebehälter 31 der identifizierten Aufnahmevorrichtung 30 festgelegt ist, wird gleichzeitig für jedes zu bearbeitenden biologische Objekt von der Software des Laser-Mikrodisektionssystems die Verstellvorrichtung 2, 15 an welcher sich der Halter 20 mit der entsprechenden Aufnahmevorrichtung 30 befindet, derart angesteuert, dass jeweils der dem zu bearbeitenden biologischen Objekt zugeordnete Aufnahmebehälter über den Laserstrahl automatisch bewegt wird, um das gewünschte biologische Objekt in den gewünschten Aufnahmebehälter befördern zu können. Dieser Ablauf erfolgt 20 vollautomatisch, so dass ohne weiteres Zutun des Benutzers sämtliche in der Liste 45 zusammengefassten biologischen Objekte in den zugehörigen Aufnahmebehältern landen.

Wurde ein derartiger Mikrodisektionsvorgang durchgeführt, 25 fährt die Software des Laser-Mikrodisektionssystems die bearbeiteten Aufnahmebehälter 30 mit der in dem Mikroskop 1 integrierten Videokamera oder mit Hilfe von anderen Bildaufnahmemitteln ab, um mit Hilfe einer Navigatorfunktion Übersichtsbilder der Aufnahmebehälter 31 zu erzeugen und auf dem 30 Bildschirm 8 des Laser-Mikrodisektionssystems darzustellen. Der Benutzer hat somit die Möglichkeit, durch Auswertung die-

ser Übersichtsbilder die Qualität des durchgeführten Dissektionsvorgangs zu beurteilen.

Ebenso wird automatisch von der Software des Laser-Mikrodissektionssystems anschließend ein Dissektionsübersichtsprotokoll erstellt, welches detailliert Auskunft über die Daten des Dissektionsvorgangs gibt und beispielsweise statistische Daten sowie die Informationen der Liste 45 mit den Zuordnungen der Dissektate zu den einzelnen Aufnahmebehältern und den in den einzelnen Aufnahmebehältern enthaltenen Konstellationen der Dissektate etc. enthält. Dieses Dissektionsübersichtsprotokoll wird insbesondere wiederum abhängig von dem Typ der identifizierten Aufnahmevorrichtung erstellt.

Grundsätzlich kann der Benutzer zwischen einer manuellen und einer automatischen Bedienung entscheiden, wobei sich abhängig von der identifizierten Aufnahmevorrichtung Unterschiede ergeben können.

Bei einer manuellen Bedienung steuert der Benutzer die einzelnen gewünschten biologischen Objekte oder die entsprechenden Aufnahmebehälter direkt an, wobei bei einem gerasterten Anfahren durch Ansteuerung des Trägertisches 3 bzw. der Verstellvorrichtung 2 gegebenenfalls manuell oder automatisch nachjustiert werden kann. Bei einer freien manuellen Anfahrt ist es auch möglich, einzelne Aufnahmebehälter 31 der verwendeten Aufnahmevorrichtung 30 manuell derart feinzusteuern, dass der Benutzer in den entsprechenden Aufnahmebehälter sehen und diese beispielsweise zum Wiederauffinden von katapultierten Dissektaten fein bewegen kann.

Die Verwendung der zuvor beschriebenen Liste 45 in Kombination mit der automatischen Identifizierung der verwendeten Auf-

nahmevorrichtung ermöglicht beispielsweise besonders vorteilhaft die vollautomatische Durchführung von Konzentrationsreihen, welche z.B. im klinischen Einsatz einer Kalibrierung nachfolgender Untersuchungen dient. So kann beispielsweise in
5 verschiedenen Aufnahmebehälter (in Fig. 6 beispielsweise in die Aufnahmebehälter der linken Spalte der identifizierten Aufnahmevorrichtung) beginnend mit einem biologischen Objekt hin bis zu einer festgelegten Menge von biologischen Objekten eine festgelegte Steigerung durchgeführt werden, um in die ein-
10 zeln zugeordneten Aufnahmebehälter unterschiedliche Konzentrationen von Dissektaten zu sammeln.

Der Vollständigkeit halber sei auch darauf hingewiesen, dass die zuvor beschriebene Navigatorfunktion, mit deren Hilfe nach einem Dissektionsvorgang die verwendeten Aufnahmebehälter 31 „gescannt“ werden, sowohl für lediglich einen verwendeten Aufnahmebehälter als auch für eine Gruppe oder ein Areal von verwendeten Aufnahmebehältern durchgeführt werden kann, wobei die mit Hilfe dieser Navigatorfunktion aufgenommenen Übersichtsbilder vorzugsweise mit einem hochvergrößernden Objektiv, beispielsweise 100-fach oder 63-fach, durch An-
15 einanderreihen der einzelnen Übersichtsbilder auf dem Bildschirm 8 des Laser-Mikrodissektionssystems dargestellt werden. Die Übersichtsbilder können zusammen mit dem Dissektion-sübersichtsprotokoll, in dem die selektierten biologischen
20 Objekte zusammen mit den gewünschten Aufnahmebehältern verzeichnet sind, zu Qualitätssicherungs- und Dokumentationszwecken abgespeichert werden. Besonders vorteilhaft ist es, wenn alle benutzten Aufnahmebehälter 31, d.h. alle Aufnahmebehälter, in welche Dissektate befördert wurden, mit Hilfe der zu-
30 vor beschriebenen Navigatorfunktion nach einem Dissektionsvorgang automatisch „gescannt“ werden.

PATENTANSPRÜCHE

1. Halter für eine Aufnahmevorrichtung zum Aufnehmen eines biologischen Objekts,
5 wobei der Halter (20) zum Einsatz in einem Mikroskopsystem ausgestaltet ist, um die Aufnahmevorrichtung (30) für den Betrieb mit dem Mikroskopsystem zu halten, dadurch gekennzeichnet,
10 dass der Halter (20) eine Codierung (23) aufweist, welche den Typ der Aufnahmevorrichtung (30) identifiziert.
2. Halter nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet,
dass der Halter (20) einen Rahmen (21) zum Halten der Aufnahmevorrichtung (30) aufweist.
- 15 3. Halter nach Anspruch 1 oder Anspruch 2,
dadurch gekennzeichnet,
dass die Codierung (23) eine optisch abtastbare Codierung ist.
4. Halter nach Anspruch 3,
20 dadurch gekennzeichnet,
dass die Codierung (23) kammartige Vorsprünge, welche sich von dem Halter (20) erstrecken, umfasst, wobei durch die Anordnung der Vorsprünge die Aufnahmevorrichtung (30) identifiziert ist.
- 25 5. Halter nach Anspruch 3 oder Anspruch 4,
dadurch gekennzeichnet,
dass die Codierung (23) einen Barcode umfasst.

-23-

6. Halter nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Codierung (23) eine induktive Codierung umfasst.
- 5 7. Halter nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Codierung (23) eine kapazitive Codierung umfasst.
- 10 8. Halter nach Anspruch 6 oder Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass die Codierung (23) einen Transponder umfasst.
- 15 9. Halter nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Halter (20) zum Halten einer Aufnahmevorrichtung (30), welche ausgewählt ist aus einer Gruppe umfassend eine Kappe, ein Röhrchen, eine Mikrotiterplatte und Anordnungen davon, ausgestaltet ist.
- 20 10. Halter nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Halter (20) zum Einsatz in einem Laser-Mikrodissektionssystem ausgestaltet ist, um die Aufnahmevorrichtung (30) für den Betrieb mit dem Laser-Mikrodissektionssystem zum Aufnehmen von mit Hilfe des Laser-Mikrodissektionssystems aus einem biologischen Material herausgelösten biologischen Objekten zu halten.
- 25 11. Mikroskopsystem, mit einem Mikroskop (1) zum Beobachten eines auf einem Objektträger (3) befindlichen biologischen Materials (43),

-24-

mit Identifizierungsmitteln (32, 33) zum Identifizieren einer in dem Mikroskopsystem verwendeten und von einem Halter (20) nach einem der vorhergehenden Ansprüche gehaltenen Aufnahmevorrichtung (30) durch Auswertung der Codierung (23) des Halters (20), und mit Steuermitteln (7) zur automatischen aufnahmevorrichtungsspezifischen Einstellung von mindestens einer Funktion des Mikroskopsystems in Abhängigkeit von der identifizierten Aufnahmevorrichtung (30).

- 10 12. Mikroskopsystem nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass die Identifizierungsmittel (32, 33) zur optischen Abtastung der Codierung (23) des Halters (20) ausgestaltet sind.
- 15 13. Mikroskopsystem nach Anspruch 11 oder Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass die Identifizierungsmittel (32, 33) zur induktiven Abtastung der Codierung (23) des Halters (20) ausgestaltet sind.
- 20 14. Mikroskopsystem nach einem der Ansprüche 11-13, dadurch gekennzeichnet, dass die Identifizierungsmittel (32, 33) zur kapazitiven Abtastung der Codierung (23) des Halters (20) ausgestaltet sind.
- 25 15. Mikroskopsystem nach einem der Ansprüche 11-14, dadurch gekennzeichnet, dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass sie in Abhängigkeit von der identifizierten Aufnahmevorrichtung (30) eine Abbildung der identifizierten Aufnah-

-25-

mevorrichtung (30) auf einer Wiedergabeeinrichtung (3) darstellen.

16. Mikroskopsystem nach einem der Ansprüche 11-15, dadurch gekennzeichnet,

5 dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass sie in Abhängigkeit der identifizierten Aufnahmevorrichtung (30) aufnahmevorrichtungsspezifische Auswahlfunktionen zur automatischen Ansteuerung der Aufnahmevorrichtung (30) anbieten.

10 17. Mikroskopsystem nach einem der Ansprüche 11-16, dadurch gekennzeichnet,

15 dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass sie in Abhängigkeit von der identifizierten Aufnahmevorrichtung (30) aufnahmevorrichtungsspezifisch eine Verstellvorrichtung (2) des Mikroskopsystems, mit welcher der Halter (20) zu koppeln ist, ansteuern, um die Aufnahmevorrichtung (30) in dem Mikroskopsystem mit Hilfe der Verstellvorrichtung (2) zu positionieren.

20 18. Mikroskopsystem nach einem der Ansprüche 11-17, dadurch gekennzeichnet,

dass das Mikroskopsystem ein Laser-Mikrodissektionssystem mit einer Laservorrichtung (4) zum Herauslösen von biologischen Objekten aus dem biologischen Material (43) mittels Laserbestrahlung ist.

25 19. Mikroskopsystem nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet,

30 dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass sie in Abhängigkeit von der identifizierten Aufnahmevorrichtung (30) aufnahmevorrichtungsspezifisch Auswahlfunktionen zur Zuordnung von einzelnen zu dissektieren-

-26-

den biologischen Objekten zu einzelnen Aufnahmebehältern (31) der Aufnahmevorrichtung (30) bereitstellen, um anschließend durch Ansteuerung einer Verstellvorrichtung (2), welche mit dem Halter (20) zu koppeln ist, die einzelnen biologischen Objekte in die entsprechend zugeordneten Aufnahmebehälter (31) der Aufnahmevorrichtung (30) automatisch zu dissektieren.

20. Mikroskopsystem nach Anspruch 18 oder Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet,

dass Bildaufnahmemittel zum Aufnehmen eines Bildes der Aufnahmevorrichtung (30) vorgesehen sind, und dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass sie in Abhängigkeit von der identifizierten Aufnahmevorrichtung (30) die Bildaufnahmemittel aufnahmeverrichtungsspezifisch derart ansteuern, dass diese automatisch die Aufnahmevorrichtung (30) abfahren, um ein Bild der Aufnahmevorrichtung (30) aufzunehmen.

21. Mikroskopsystem nach Anspruch 20,

dadurch gekennzeichnet,

dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass sie nach einem Dissektionsvorgang automatisch die Bildaufnahmemittel zum Aufnehmen des Bilds der Aufnahmevorrichtung (30) zumindest in einem Bereich derjenigen Aufnahmebehälter (31), in die die biologischen Objekte dissektiert werden, ansteuern.

22. Mikroskopsystem nach einem der Ansprüche 18-21, dadurch gekennzeichnet,

dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass sie in Abhängigkeit von der identifizierten Aufnahmevorrichtung (30) ein aufnahmeverrichtungsspezifisches Dissektionsprotokoll über einen in Bezug auf die Aufnahme-

-27-

vorrichtung (30) durchgeführten Dissektionsablauf
erstellen.

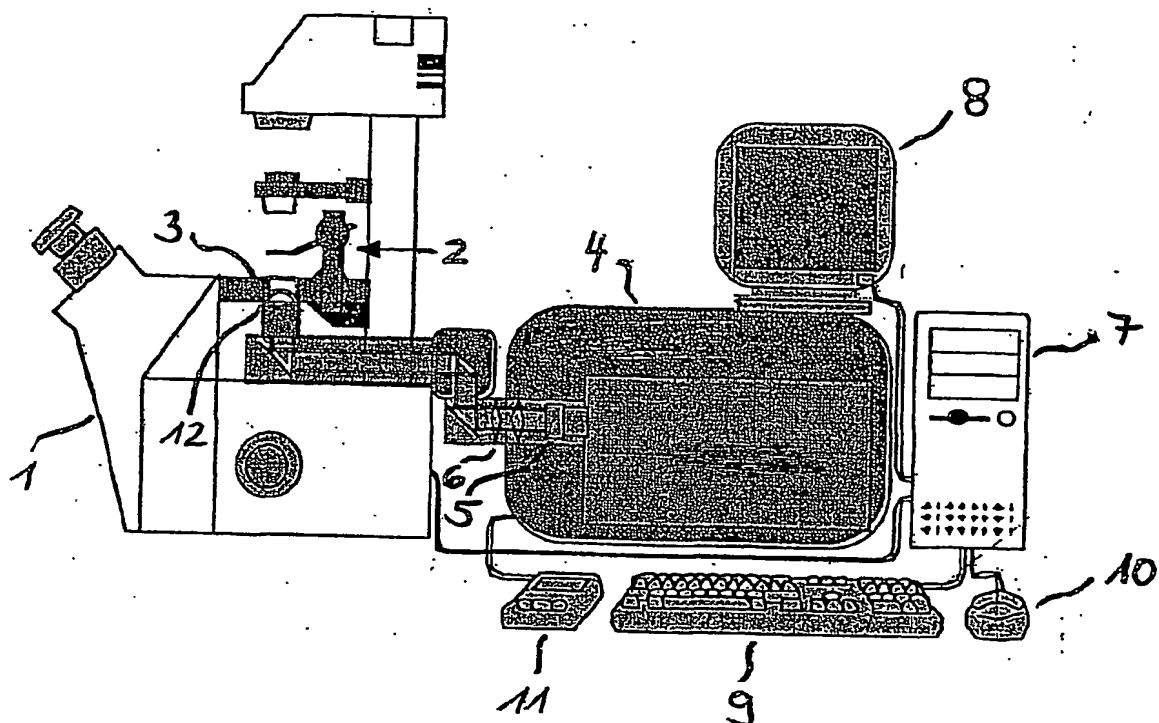


FIG. 1

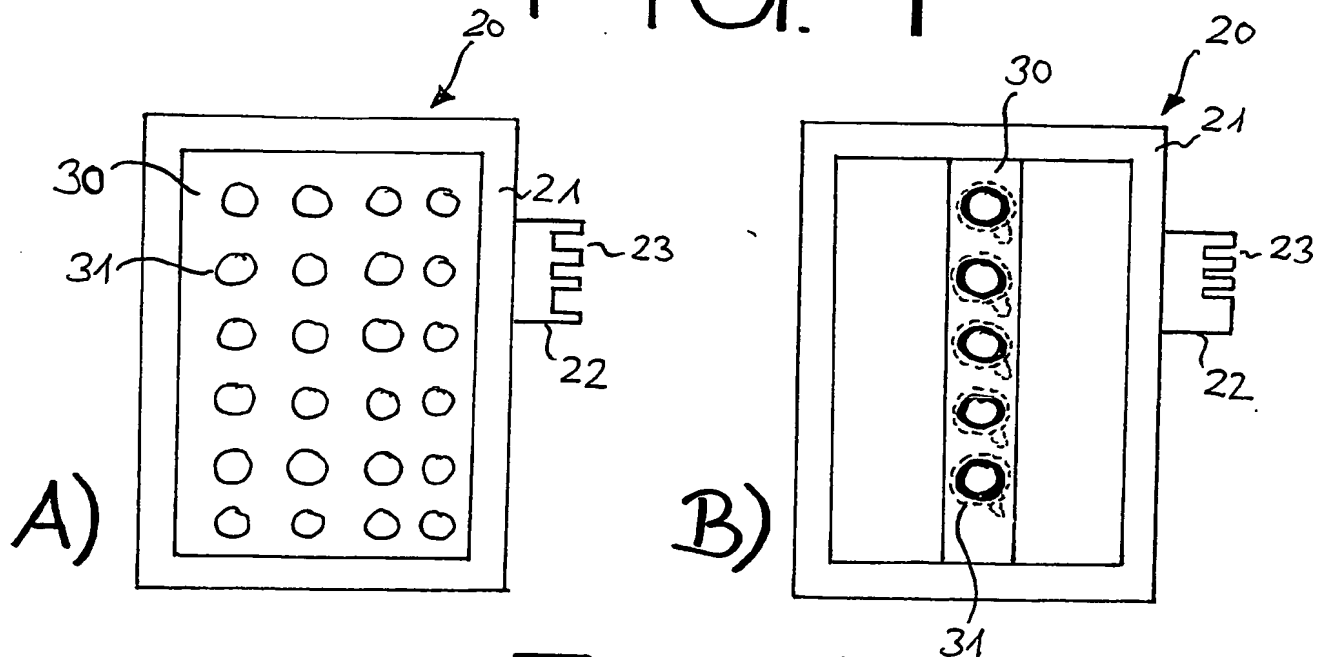


FIG. 2

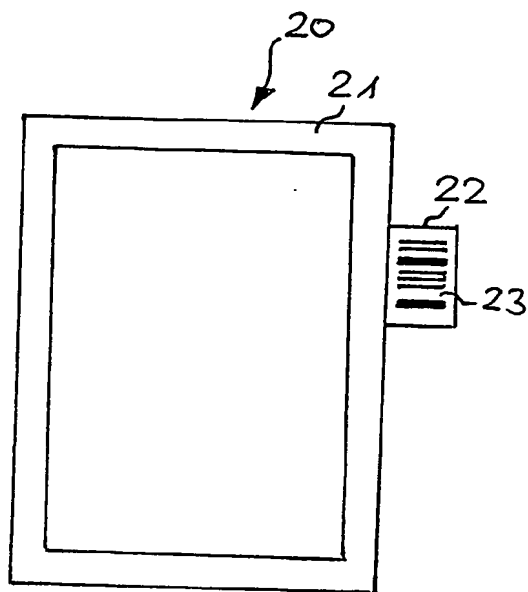


FIG. 3

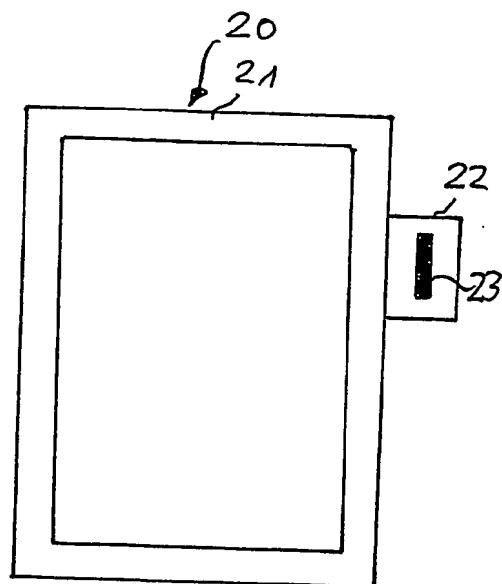


FIG. 4

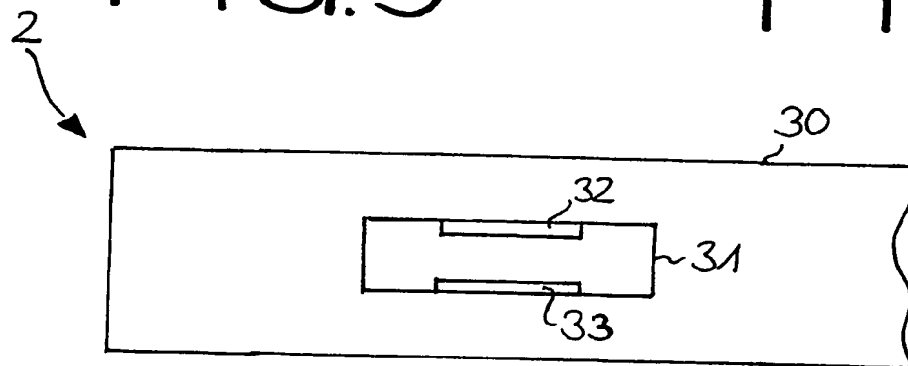


FIG. 5

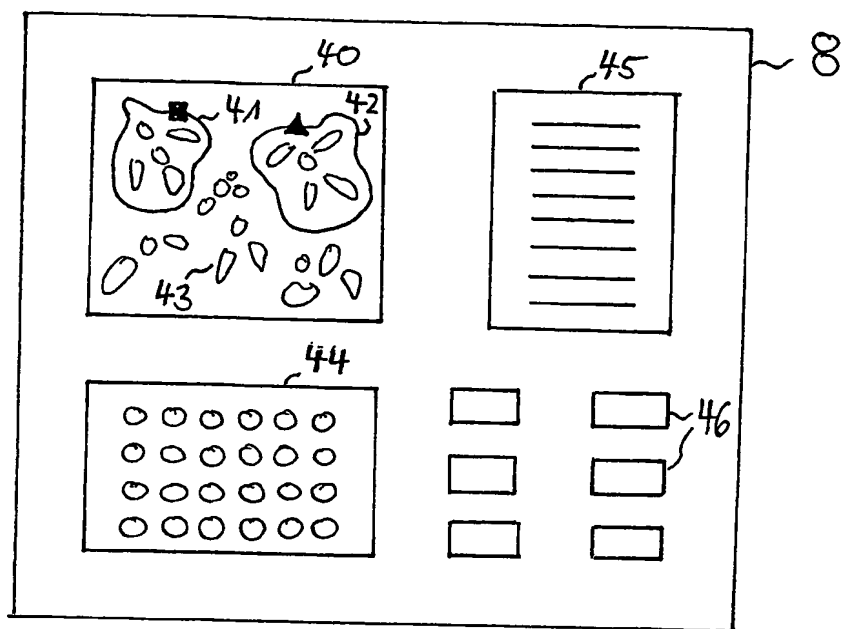


FIG. 6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/EP 03/13013

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 B01L3/00 G01N1/28 B01L9/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 B01L G01N G08B

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 592 289 A (NORRIS MICHAEL C) 7 January 1997 (1997-01-07) page 9, paragraph 97; figures 2-4	1-10
Y	column 7, line 11-46; figures 3-8 ---	11-22
X	US 2002/155617 A1 (HAROOTUNIAN ALEC TATE ET AL) 24 October 2002 (2002-10-24) page 9, paragraph 97; figures 2-4 ---	1-10
Y	US 5 998 129 A (SCHUETZE KARIN ET AL) 7 December 1999 (1999-12-07) column 4, line 38-57 column 5, line 28-35 column 6, line 28-64 column 7, line 45-57; figures 2,5 ---	11-22
	-/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

Z document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

2 March 2004

Date of mailing of the international search report

26/03/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Cantalapiedra, I

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/EP 03/13013

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 6 258 326 B1 (MODLIN DOUGLAS N) 10 July 2001 (2001-07-10) column 3, line 32 -column 4, line 5 column 4, line 38-41 column 6, line 15-45 column 6, line 57,58; figure 2 ---	1-10
A	WO 01 60519 A (ORCHID BIOSCIENCES INC) 23 August 2001 (2001-08-23) page 5, line 17-23 page 7, line 8-16; figures 2,6 ---	1-10
A	US 2002/056345 A1 (JOHANNSEN GERHARD ET AL) 16 May 2002 (2002-05-16) page 2, column 2, paragraph 31 -page 3, column 1, paragraph 39; figures 1,2 ---	11-22
A	WO 99 39176 A (PETERSON JOHN ;POHIDA THOMAS (US); US HEALTH (US); BONNER ROBERT F) 5 August 1999 (1999-08-05) page 14, line 38 -page 15, line 9; figures 1,9,13 -----	11-22

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP 03/13013

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5592289	A	07-01-1997	AU 4697196 A WO 9621855 A1	31-07-1996 18-07-1996
US 2002155617	A1	24-10-2002	US 6517781 B1 US 6171780 B1 AU 2787099 A CA 2271373 A1 EP 1066400 A1 WO 9942608 A1 US 6426050 B1 US 6254833 B1 US 2003039591 A1	11-02-2003 09-01-2001 06-09-1999 24-08-1999 10-01-2001 26-08-1999 30-07-2002 03-07-2001 27-02-2003
US 5998129	A	07-12-1999	DE 19603996 A1 DE 19616216 A1 AT 196360 T CA 2245553 A1 DE 29723120 U1 DE 59702347 D1 WO 9729354 A1 WO 9729355 A1 EP 0879408 A1 ES 2150754 T3 JP 3311757 B2 JP 2000504824 T	14-08-1997 30-10-1997 15-09-2000 14-08-1997 14-05-1998 19-10-2000 14-08-1997 14-08-1997 25-11-1998 01-12-2000 05-08-2002 18-04-2000
US 6258326	B1	10-07-2001	AU 1518499 A AU 3649199 A EP 1032813 A2 EP 1071942 A1 JP 2003521670 T WO 9923466 A2 WO 9954711 A1 US 6097025 A US 6488892 B1 US 6469311 B1 AU 8485398 A EP 1012579 A2 JP 2002509235 T US 6071748 A WO 9904228 A2 US 2001021074 A1 US 6033100 A US 6025985 A US 6159425 A US 6499366 B1 US 6187267 B1 US 2001007640 A1	24-05-1999 08-11-1999 06-09-2000 31-01-2001 15-07-2003 14-05-1999 28-10-1999 01-08-2000 03-12-2002 22-10-2002 10-02-1999 28-06-2000 26-03-2002 06-06-2000 28-01-1999 13-09-2001 07-03-2000 15-02-2000 12-12-2000 31-12-2002 13-02-2001 12-07-2001
WO 0160519	A	23-08-2001	AU 4797101 A WO 0160519 A1	27-08-2001 23-08-2001
US 2002056345	A1	16-05-2002	DE 10043506 C1 DE 50100861 D1 EP 1186879 A2 JP 2002174778 A	06-12-2001 04-12-2003 13-03-2002 21-06-2002
WO 9939176	A	05-08-1999	AU 749378 B2	27-06-2002

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP 03/13013

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9939176	A	AU 2485099 A	16-08-1999
		CA 2319589 A1	05-08-1999
		EP 1053461 A1	22-11-2000
		JP 2002502025 T	22-01-2002
		WO 9939176 A1	05-08-1999

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/13013

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 B01L3/00 G01N1/28 B01L9/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 B01L G01N G08B

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 5 592 289 A (NORRIS MICHAEL C) 7. Januar 1997 (1997-01-07) Seite 9, Absatz 97; Abbildungen 2-4	1-10
Y	Spalte 7, Zeile 11-46; Abbildungen 3-8	11-22
X	US 2002/155617 A1 (HAROOTUNIAN ALEC TATE ET AL) 24. Oktober 2002 (2002-10-24) Seite 9, Absatz 97; Abbildungen 2-4	1-10
Y	US 5 998 129 A (SCHUETZE KARIN ET AL) 7. Dezember 1999 (1999-12-07) Spalte 4, Zeile 38-57 Spalte 5, Zeile 28-35 Spalte 6, Zeile 28-64 Spalte 7, Zeile 45-57; Abbildungen 2,5	11-22
	-/-	

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

2. März 2004

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

26/03/2004

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Cantalapiedra, I

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationaler Aktenzeichen

PCT/EP 03/13013

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 6 258 326 B1 (MODLIN DOUGLAS N) 10. Juli 2001 (2001-07-10) Spalte 3, Zeile 32 -Spalte 4, Zeile 5 Spalte 4, Zeile 38-41 Spalte 6, Zeile 15-45 Spalte 6, Zeile 57,58; Abbildung 2 -----	1-10
A	WO 01 60519 A (ORCHID BIOSCIENCES INC) 23. August 2001 (2001-08-23) Seite 5, Zeile 17-23 Seite 7, Zeile 8-16; Abbildungen 2,6 -----	1-10
A	US 2002/056345 A1 (JOHANNSEN GERHARD ET AL) 16. Mai 2002 (2002-05-16) Seite 2, Spalte 2, Absatz 31 -Seite 3, Spalte 1, Absatz 39; Abbildungen 1,2 -----	11-22
A	WO 99 39176 A (PETERSON JOHN ;POHIDA THOMAS (US); US HEALTH (US); BONNER ROBERT F) 5. August 1999 (1999-08-05) Seite 14, Zeile 38 -Seite 15, Zeile 9; Abbildungen 1,9,13 -----	11-22

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationale Aktenzeichen

PCT/EP 03/13013

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
US 5592289	A	07-01-1997	AU	4697196 A	31-07-1996
			WO	9621855 A1	18-07-1996
US 2002155617	A1	24-10-2002	US	6517781 B1	11-02-2003
			US	6171780 B1	09-01-2001
			AU	2787099 A	06-09-1999
			CA	2271373 A1	24-08-1999
			EP	1066400 A1	10-01-2001
			WO	9942608 A1	26-08-1999
			US	6426050 B1	30-07-2002
			US	6254833 B1	03-07-2001
			US	2003039591 A1	27-02-2003
US 5998129	A	07-12-1999	DE	19603996 A1	14-08-1997
			DE	19616216 A1	30-10-1997
			AT	196360 T	15-09-2000
			CA	2245553 A1	14-08-1997
			DE	29723120 U1	14-05-1998
			DE	59702347 D1	19-10-2000
			WO	9729354 A1	14-08-1997
			WO	9729355 A1	14-08-1997
			EP	0879408 A1	25-11-1998
			ES	2150754 T3	01-12-2000
			JP	3311757 B2	05-08-2002
			JP	2000504824 T	18-04-2000
US 6258326	B1	10-07-2001	AU	1518499 A	24-05-1999
			AU	3649199 A	08-11-1999
			EP	1032813 A2	06-09-2000
			EP	1071942 A1	31-01-2001
			JP	2003521670 T	15-07-2003
			WO	9923466 A2	14-05-1999
			WO	9954711 A1	28-10-1999
			US	6097025 A	01-08-2000
			US	6488892 B1	03-12-2002
			US	6469311 B1	22-10-2002
			AU	8485398 A	10-02-1999
			EP	1012579 A2	28-06-2000
			JP	2002509235 T	26-03-2002
			US	6071748 A	06-06-2000
			WO	9904228 A2	28-01-1999
			US	2001021074 A1	13-09-2001
			US	6033100 A	07-03-2000
			US	6025985 A	15-02-2000
			US	6159425 A	12-12-2000
			US	6499366 B1	31-12-2002
			US	6187267 B1	13-02-2001
			US	2001007640 A1	12-07-2001
WO 0160519	A	23-08-2001	AU	4797101 A	27-08-2001
			WO	0160519 A1	23-08-2001
US 2002056345	A1	16-05-2002	DE	10043506 C1	06-12-2001
			DE	50100861 D1	04-12-2003
			EP	1186879 A2	13-03-2002
			JP	2002174778 A	21-06-2002
WO 9939176	A	05-08-1999	AU	749378 B2	27-06-2002

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationaler Aktenzeichen

PCT/EP 03/13013

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9939176	A	AU 2485099 A	16-08-1999
		CA 2319589 A1	05-08-1999
		EP 1053461 A1	22-11-2000
		JP 2002502025 T	22-01-2002
		WO 9939176 A1	05-08-1999
<hr/>			

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☐ **BLACK BORDERS**

☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**

☐ **FADED TEXT OR DRAWING**

☒ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**

☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**

☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**

☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**

☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**

☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**

☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.